



# **Saúde óssea de adolescentes do sexo feminino com anorexia nervosa**

*Bone health of female adolescents with anorexia nervosa*

**Joana Isabel Ferrão Silveira**

Orientado por: Prof. Doutor Rui Poínhos

Co-orientado por: Dr. Paulo Santos

**Trabalho de Investigação**

**2.º Ciclo em Ciências da Nutrição**

**Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto**

**Porto, 2016**



## AGRADECIMENTOS

A concretização deste trabalho não teria sido possível sem a contribuição de algumas pessoas um tanto ao quanto marcantes no meu percurso, por este motivo não podia deixar de agradecer:

Ao Professor Rui Poínhos pelo entusiasmo que desde sempre demonstrou por este trabalho, por estimular constantemente a minha autoconfiança e por toda a paciência, disponibilidade e afeição, bem como pela transmissão de conhecimentos essenciais.

Ao Dr. Paulo Santos por me ter ajudado a concretizar os meus fundamentos teóricos em conhecimentos práticos, pela sensibilidade à nutrição na prática clínica hospitalar, por ter aceitado este desafio e por acreditar sempre nas minhas capacidades.

Ao Conselho de Administração do Centro Hospitalar Tondela- Viseu pela diligência e aprovação da realização do presente trabalho.

Ao Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar Tondela- Viseu pelo acolhimento e afeição demonstrado.

À D. Isabel, à D. Teresa e à Xaninha pela ajuda valiosa na obtenção dos dados clínicos.

À Doris e à Filipa Costa pelo companheirismo neste percurso.

À Lúcia e ao Zé por me aturarem nos piores momentos, pelos risos soltos e pela preocupação constante.

Ao Dr. João Pedro e à Sandra pela amizade e carinho que sempre demonstraram e pelo incentivo fundamental para a realização deste trabalho.

À Professora Cristina, pela ajuda e disponibilidade total em tudo o que preciso, mas muito mais do que isso pela amizade e carinho!

Ao Tó, à Margarida, ao Johnny e à Margaridinha por serem parte integrante da minha vida.

Aos meus pais por me terem possibilitado alcançar os objetivos e contribuído para a pessoa que sou hoje.

Ao meu irmão por ser a minha metade e pelo apoio fulcral.

Ao Nuno, por ser o pilar da minha vida!



# ÍNDICE GERAL

Índice geral .....	i
Índice de tabelas .....	ii
Índice de gráficos .....	ii
Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas .....	iii
Resumo .....	iv
Abstract .....	v
Introdução .....	1
Marcadores de diagnóstico .....	4
Densidade mineral óssea .....	6
Mecanismos de perda óssea .....	7
Marcadores analíticos determinantes do estado ósseo .....	9
Avaliação da densidade mineral óssea .....	13
Estratégias nutricionais para melhoria do estado de saúde ósseo .....	14
Objetivos .....	17
Objetivo geral .....	17
Objetivos específicos .....	17
Metodologia .....	19
Amostra .....	19
Procedimentos .....	20
Material e métodos .....	20
Análise estatística .....	22
Resultados .....	25
Discussão e conclusão .....	31
Referências .....	39

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Categorização da densidade mineral óssea .....	27
--	----

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Valores de referência dos parâmetros analíticos estudados .....	21
<b>Tabela 2:</b> Categorização da amostra face aos intervalos de referência dos parâmetros analíticos estudados.....	26
<b>Tabela 3:</b> Caracterização de parâmetros ósseos em função da localização .....	26
<b>Tabela 4:</b> Frequência de dados clínicos relevantes .....	27
<b>Tabela 5:</b> Correlação entre idade, parâmetros antropométricos, dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico e dados de densitometria óssea .....	29
<b>Tabela 6:</b> Comparação entre grupos que realizam ou não exercício físico relativamente a parâmetros antropométricos, dados de densitometria óssea e dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS E SIGLAS

CHTV, E.P.E.	Centro Hospitalar Tondela-Viseu, Entidade Pública Empresarial
CMO	Conteúdo mineral ósseo
DEXA	<i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i>
DMO	Densidade mineral óssea
DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
<i>et al.</i>	<i>et alia</i>
FSH	Hormona Estimulante do Folículo (do inglês, <i>Follicle-Stimulating Hormone</i> )
GH	Hormona de Crescimento (do inglês, <i>Growth Hormone</i> )
GnRH	Hormona Libertadora de Gonadotropina (do inglês, <i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i> )
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês, <i>High Density Lipoprotein</i> )
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1 (do inglês, <i>Insulin like growth factor-1</i> )
IMC	Índice de Massa Corporal
ISCD	<i>International Society for Clinical Densitometry</i>
LH	Hormona Luteinizante (do inglês, <i>Luteinizing Hormone</i> )
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPG	Osteoprotegerina (do inglês, <i>Osteoprotegerin</i> )
PTH	Hormona Paratiroide (do inglês, <i>Parathyroid Hormone</i> )
PYY	Peptídeo YY (do inglês, <i>Peptide YY</i> )
RANKL	Ligante do Recetor Ativador do Fator Nuclear Kappa B (do inglês, <i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand</i> )
TRH	Hormona Libertadora de Tirotropina (do inglês, <i>Thyrotropin-Releasing Hormone</i> )
TSH	Hormona Estimulante da Tireoide (do inglês, <i>Thyroid-Stimulating Hormone</i> )
T <sub>3</sub>	Tri-iodotironina (do inglês, <i>Triiodothyronine</i> )
T <sub>4</sub>	Tiroxina (do inglês, <i>Thyroxine</i> )
WHO	Organização Mundial de Saúde (do inglês, <i>World Health Organisation</i> )

## RESUMO

A anorexia nervosa é uma patologia com início na adolescência com comportamentos e especificidades associadas, podendo levar a um comprometimento nutricional e distúrbios nos principais sistemas orgânicos. Contudo, ao contrário de outras alterações, reversíveis com uma reabilitação nutricional, a densidade mineral óssea pode não ser readquirida na totalidade, fator preocupante na adolescência devido ao período crítico de otimização de massa óssea.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da densidade mineral óssea de adolescentes do sexo feminino com anorexia nervosa.

A amostra incluiu 40 doentes com idades entre 13 e 18 anos que efetuaram densitometria óssea. Foi realizada a recolha de dados antropométricos, analíticos, ósseos e dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico.

Verificou-se que apenas 10% dos indivíduos apresentavam baixo peso/ baixo peso severo no que toca à categorização do *z-score* do Índice de Massa Corporal para a idade. Relativamente aos parâmetros analíticos encontravam-se quase na totalidade dentro dos valores de referência. O exame de densitometria óssea revelou que o triângulo de *Ward* é o local onde a densidade mineral óssea era menor. No que concerne aos dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico a irritabilidade e as mãos frias eram as características presentes em maior proporção.

A avaliação da densidade mineral óssea, como parâmetro de análise da saúde óssea na amostra estudada, permitiu observar a evidência de baixa densidade mineral óssea, em locais como o triângulo de *Ward* e o trocânter.

O presente estudo possibilitou a formulação de sugestões relativas a diferentes variáveis com o propósito da melhoria da prática/rotina hospitalares.

**Palavras-Chave:** Anorexia nervosa, saúde óssea, densidade mineral óssea, adolescência



## **ABSTRACT**

Anorexia nervosa is a disorder with onset in adolescence with behaviors and characteristics associated that can lead to nutritional impairment and disturbances in major organic systems. However, unlike other alterations, reversible with nutritional rehabilitation, bone mineral density cannot be repurchased in full, a worrying factor during adolescence due to the critical period of bone mass optimization.

The aim of this work was to study bone mineral density of female adolescents with anorexia nervosa.

The sample included 40 patients aged between 13 and 18 years old who did bone densitometry. There was made a collection of anthropometric and analytical data, data on bone mineral density and clinical data supporting the diagnosis.

It was found that only 10% of the subjects had low weight/ severe low weight regarding to the categorization of the z-score of Body Mass Index for age. With regard to analytical parameters, they found themselves almost all entirely within the reference values. The bone densitometry revealed that Ward's triangle was where bone mineral density was lower. Concerning to clinical data supporting the diagnosis, irritability and cold hands were the features with higher proportions.

Bone mineral density assessment, as bone health analysis parameter in the studied sample, evidenced low bone mineral density, in places such as the Ward's triangle and trochanter.

This study enabled the formulation of suggestions relative to different variables for the purpose of improving the hospital's practice/routine.

**Key-Words:** Anorexia nervosa, bone health, bone mineral density, adolescence



## INTRODUÇÃO

A anorexia nervosa, segundo os critérios do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders V* (DSM V, 2013), é definida pela restrição alimentar; medo intenso de ganho de peso ou de se tornar gorda, ou comportamento persistente que interfere com o ganho de peso; e uma distorção da auto percepção corporal<sup>1</sup>.

A anorexia nervosa é comum ser iniciada durante a adolescência, dos 10 aos 19 anos de idade<sup>2</sup>, sendo que é rara antes da puberdade e depois dos 40 anos de idade, mas existem casos descritos na literatura<sup>1</sup>.

A prevalência na Europa de adolescentes do sexo feminino com anorexia nervosa é de aproximadamente 0,4%<sup>1,3</sup>, sendo o pico de incidência entre os 15 e os 19 anos de idade<sup>4</sup>. A taxa de mortalidade bruta ronda os 5% por década<sup>1</sup> e a taxa de recuperação varia entre os 44 e os 76%<sup>5</sup>. A maior parte dos indivíduos com anorexia nervosa apresenta uma remissão dentro de 5 anos após o diagnóstico<sup>1</sup>.

Existem dois subtipos distintos de anorexia nervosa: o restritivo e o purgativo.

O subtipo restritivo implica que durante três meses o indivíduo não esteja envolvido em episódios recorrentes de compulsão alimentar ou comportamentos purgativos; neste tipo habitualmente a perda de peso é causada primariamente por dieta, jejum e/ ou exercício físico excessivo<sup>1</sup>.

O subtipo compulsão alimentar/ purgativo exige que durante três meses o indivíduo apresente episódios recorrentes de compulsão alimentar/ comportamento purgativo e/ ou uso de medicação, como laxantes e diuréticos. Contudo, alguns indivíduos não realizam atos de compulsão alimentar mas induzem o vômito regularmente depois de consumirem pequenas quantidades de alimentos. A obsessão e compulsão relacionadas com a comida podem ser exacerbadas pela desnutrição<sup>1</sup>.

Existem vários fatores que podem propiciar o aparecimento de anorexia nervosa, tais como temperamento e fatores de caráter ambiental, genético e fisiológico<sup>1</sup>. Assim, no que diz respeito ao temperamento sabe-se que indivíduos que desenvolvem distúrbios de ansiedade ou comportamentos obsessivos tratados na infância têm risco aumentado em desenvolver anorexia nervosa<sup>1</sup>. De caráter ambiental é descrito que as ocupações que incentivam a magreza, como atleta de alta competição ou manequim, estão também associados a um aumento do risco<sup>1,4,6</sup>. O fator genético é preponderante, sendo que há um aumento do risco entre indivíduos do primeiro grau de parentesco<sup>1</sup>.

Os comportamentos e as especificidades associadas à anorexia nervosa podem levar a uma condição médica debilitada com compromisso nutricional e distúrbios na maioria dos sistemas orgânicos *major* que levam a alterações laboratoriais, porém nem todos os indivíduos apresentam valores laboratoriais alterados<sup>1</sup>.

Os indivíduos com anorexia nervosa têm muitas vezes sintomatologia depressiva como humor depressivo, isolamento, irritabilidade e insônia<sup>1,6</sup>. Outras características associadas com esta patologia incluem preocupação relativamente a comer em público, sentimentos de frustração, desejo de controlar o ambiente em que estão inseridos, pensamento inflexível, espontaneidade social limitada e expressão emocional excessivamente restringida<sup>1,7</sup>.

O exercício físico excessivo é outra realidade muito presente na anorexia nervosa<sup>1</sup>.

O tratamento por uma equipa multidisciplinar experiente, assim como, um diagnóstico precoce da doença e uma melhoria da autoestima são fatores favoráveis de

prognóstico<sup>8</sup>, por outro lado, uma desnutrição severa inicial, presença de comportamentos purgativos, falha na resposta terapêutica, comorbilidades associadas e relacionamento familiar perturbado são fatores desfavoráveis de prognóstico<sup>9</sup>.

Um indivíduo que apresente anorexia nervosa na fase da adolescência tem melhor prognóstico que um indivíduo na fase adulta<sup>6</sup>.

Atualmente o *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders V* (DSM V) define como principais critérios de diagnóstico para a anorexia nervosa:

a) Restrição da ingestão energética relativa às necessidades, levando a um baixo peso corporal significativo (peso que é menor do que o minimamente normal ou menor do que o expectável) no contexto da idade, sexo, trajetória de crescimento e saúde física<sup>1</sup>.

Em crianças e adolescentes o uso do percentil do Índice de Massa Corporal (IMC) para a idade pode ser útil<sup>1</sup>, sendo que *z-scores* inferiores a -2 correspondem a magreza e inferiores a -3 a magreza severa, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS)<sup>10,11</sup>.

b) Medo intenso de ganho de peso ou de se tornar gorda, ou comportamento persistente que interfere com o ganho de peso, sendo que a perda de peso não atenua o medo permanente de engordar. Na ausência de outra explicação para baixo peso significativo, história clínica colateral, dados observacionais, físicos e achados laboratoriais que indiquem medo de ganho de peso ou suportem comportamentos persistentes para prevenir o mesmo podem ser usados como critério de diagnóstico<sup>1</sup>.

c) Perturbação na maneira em que o peso ou forma corporal são conhecidos; influência indevida do peso ou forma corporal na autoavaliação; ou falha persistente no reconhecimento da gravidade do baixo peso corporal vigente<sup>1</sup>.

Segundo a DSM V a severidade da doença pode ser categorizada de acordo com uma escala adaptada de IMC da OMS, que poderá ser condicionada por fatores como sintomas, grau de incapacidade funcional e necessidade de supervisão, categorizando-se como severidade:

– Média, se IMC igual ou superior a 17,00 kg/ m<sup>2</sup>;

- Moderada, se IMC entre 16,00 e 16,99 kg/ m<sup>2</sup>;
- Severa, se IMC entre 15,00 e 15,99 kg/ m<sup>2</sup>;
- Extrema, se IMC inferior a 15,00 kg/ m<sup>2</sup> <sup>1,12</sup>.

## **Marcadores de diagnóstico**

Muitos dos sinais e sintomas decorrentes da anorexia nervosa são secundários à malnutrição<sup>1,9</sup>.

A amenorreia está comumente presente e parece ser um indicador de disfunção fisiológica, sendo usualmente uma consequência da perda de peso. Em mulheres prepúbereas, a menarca pode inclusivamente ser atrasada<sup>1</sup>.

Juntamente com a amenorreia podem existir sintomas como obstipação, dor abdominal, intolerância ao frio e letargia<sup>1</sup>.

O achado mais marcante no exame físico de um indivíduo com anorexia nervosa é a emaciação<sup>1</sup>. Habitualmente encontra-se também hipotensão e hipotermia<sup>1</sup>. Alguns indivíduos desenvolvem lanugo, acrocianose e edema periférico, este último especialmente durante a recuperação de peso ou aquando a cessação de laxantes ou uso abusivo de diuréticos<sup>1,7,9</sup>. Podem ainda evidenciar pele alaranjada, associado a hiper胡萝卜素emia<sup>1,9</sup>. Aqueles que auto induzem o vômito apresentam hipertrofia das glândulas salivares, particularmente das glândulas parótidas, assim como erosão dentária e sinal de *Russel* na face dorsal das mãos<sup>1,9</sup>.

A anorexia nervosa tem uma taxa de mortalidade mais elevada quando comparada a outras doenças do foro psiquiátrico, maioritariamente devido a complicações médicas.

Os marcadores de diagnóstico são parâmetros biológicos que coadjuvam o diagnóstico<sup>13</sup>. Na anorexia nervosa podem ser observadas algumas alterações laboratoriais nesse sentido<sup>1</sup>.

A leucopenia é comum ser encontrada, assim como a anemia ligeira e a trombocitopenia<sup>1</sup>. A hipercolesterolemia (à custa das Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL) devido ao exercício físico excessivo<sup>14</sup>) é outra alteração comum, bem como o aumento das enzimas hepáticas, hipomagnesemia, hipozincemia, hipofosfatemia e hiperamilasemia.

O vômito auto induzido pode levar a alcalose metabólica, hipocloremia e hipocalemia e o uso abusivo de laxantes pode induzir uma acidose metabólica<sup>1,9</sup>.

Os níveis de creatinina podem estar diminuídos, refletindo a perda de massa muscular<sup>9</sup>.

Os níveis de tiroxina (T<sub>4</sub>) séricos estão normalmente nos valores mínimos aceitáveis, os níveis de tri-iodotironina (T<sub>3</sub>) estão diminuídos, proporcionalmente à perda de peso<sup>15,16</sup>, enquanto os níveis da T<sub>3</sub> reversa estão elevados devido à conversão da T<sub>4</sub> para este composto<sup>1</sup>. A hormona estimulante da tiroide (TSH) encontra-se dentro dos valores normais<sup>15,16</sup>.

As adolescentes do sexo feminino apresentam baixos níveis séricos de estrogénios<sup>1,17</sup>. Além disso, os indivíduos com anorexia nervosa podem evidenciar encefalopatia metabólica resultante de distúrbios eletrolíticos e de fluidos significativos<sup>1,9</sup>.

A nível eletrocardiográfico, nesta patologia é comum apresentarem bradicardia sinusal e prolongamento do intervalo QTc<sup>1,9</sup>; já no que diz respeito ao gasto energético de repouso, apresentam uma diminuição do mesmo<sup>1</sup>.

No que se refere ao estado ósseo, a anorexia nervosa é caracterizada por uma baixa densidade mineral óssea (DMO), facto que é considerado relevante, pois ao contrário de outras alterações que são reversíveis com uma reabilitação nutricional, a DMO pode não ser totalmente recuperada<sup>1,6</sup>.

## Densidade mineral óssea

A anorexia nervosa pode causar uma diminuição da DMO<sup>18</sup>, o que é particularmente preocupante na fase da adolescência devido ao período crítico de otimização de massa óssea - pico de massa óssea<sup>19-21</sup>. O pico de massa óssea refere-se ao nível mais elevado de massa óssea atingido como resultado de um desenvolvimento normal, geralmente por volta dos 18 anos de idade<sup>22</sup>, sendo este importante porque determina a resistência ou suscetibilidade à fratura<sup>22</sup>.

A osteopenia é uma das mais severas complicações associadas à anorexia nervosa e provavelmente uma das mais difíceis de reverter, podendo nunca mais ser atingido um pico de massa óssea normalizado<sup>9</sup>. Indivíduos do sexo feminino com anorexia nervosa, que desenvolvem a patologia durante a fase da adolescência, tendem a ter menor densidade mineral óssea do que aquelas que desenvolvem a mesma condição na vida adulta, apesar de uma duração similar de amenorreia<sup>15,21</sup>.

A osteoporose é caracterizada por baixa massa óssea, deterioração do tecido ósseo e rotura da arquitetura óssea, comprometendo assim a força óssea e aumentando o risco de fratura<sup>23</sup>. A maioria das fraturas são comumente encontradas ao nível da coluna, particularmente da lombar, do fêmur proximal e do punho<sup>23,24</sup>. A osteoporose é uma doença silenciosa que pode ser prevenida, diagnosticada e tratada antes da ocorrência de qualquer fratura<sup>23</sup>.

Só existe categorização com pontos de corte, relativamente ao diagnóstico de osteoporose, para as mulheres em pós-menopausa. A OMS define osteoporose em mulheres em pós menopausa como DMO a nível da coluna, colo do fêmur ou antebraço com base num *t-score* inferior a -2,5 (face a um adulto jovem normal) e osteopenia como um *t-score* entre -1 e -2,5<sup>25</sup>. Para mulheres jovens e em pré-menopausa ainda não foram definidos limites concretos de DMO, contudo é de extrema importância a sua medição em patologias como a anorexia nervosa<sup>15</sup>. Deste modo, não é correto adotar a classificação da OMS relativamente ao diagnóstico da osteoporose nesta fase do ciclo de vida, nem ser diagnosticada apenas com base em critérios densitométricos<sup>23</sup>.



Segundo a *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) o diagnóstico da osteoporose em crianças e adolescentes requer, tanto a presença de história de fratura clinicamente significativa, como a diminuição do conteúdo mineral ósseo ou densidade mineral óssea<sup>26</sup>. A terminologia mais adequada para idade pediátrica refere-se a “baixa densidade mineral óssea para a idade cronológica” quando os *z-score* de DMO são iguais ou inferiores a -2,0<sup>27</sup>.

Num estudo de Misra *et al.*, mais do que 50% das adolescentes com anorexia nervosa tinham *z-score* inferior a -1 em uma ou mais áreas do esqueleto ósseo<sup>21</sup>, e noutro estudo de Soyka *et al.* metade das adolescentes tinham um *z-score* a nível da coluna lombar inferior a -1 e 21% um *z-score* inferior a -2<sup>28</sup>.

### Mecanismos de perda óssea

A anorexia nervosa está associada a mudanças endócrinas, muitas destas adaptativas, de forma a ajudar a conservar a energia para as funções vitais, estimular a ingestão alimentar ou manter a glicemia<sup>21</sup>. Contudo, as mudanças hormonais observadas têm efeito deletério no osso<sup>21,29,30</sup> resultando num aumento da reabsorção óssea, conjuntamente com uma diminuição da formação óssea<sup>30</sup>. Estas alterações têm sido evidenciadas como responsáveis pelo desenvolvimento de osteoporose na adolescência<sup>29</sup> e aumento do risco de fratura quando comparadas com adolescentes saudáveis<sup>31</sup>.

O hipogonadismo hipogonadotrófico encontra-se frequentemente em doentes com anorexia nervosa. Apesar de a amenorreia ter sido excluída como critério de diagnóstico no DSM V, é comum ser encontrada em mulheres com anorexia nervosa<sup>21</sup>. O hipogonadismo atribui-se a baixos níveis de Hormona Libertadora de Gonadotropina (GnRH) e consequentemente baixos níveis de Hormona Luteinizante (LH) e Hormona Estimulante do Folículo (FSH), estrogénios e testosterona<sup>15</sup>. Efetivamente, a duração da amenorreia e o atraso da menarca<sup>21</sup> estão inversamente associados à densidade mineral óssea<sup>30,32,33</sup>. Os estrogénios inibem a reabsorção óssea osteoclástica pela inibição do

Ligante do Recetor do Ativador do Fator Nuclear Kappa B (RANKL) e estimulam a secreção da osteoprotegerina (OPG) pelo osteoblasto<sup>34,35</sup> e, previnem ainda a redução da área cortical, o que não se verifica na anorexia nervosa. Devido ao facto de a espessura cortical ser um determinante importante de força óssea, a sua redução contribui para o aumento do risco de fratura<sup>36</sup>.

A leptina é uma hormona anorexigénica secretada pelo tecido adiposo, um importante mediador do hipogonadismo hipogonadotrópico em estados de gasto energético negativo. Assim, visto que os indivíduos com anorexia nervosa têm baixos níveis de tecido adiposo, incluindo gordura subcutânea, apresentam baixos níveis de leptina<sup>16,17,37</sup>, estando estes associados à diminuição da densidade mineral óssea, independentemente da duração da amenorreia<sup>30,38</sup>. Níveis de leptina significativamente baixos são encontrados em doentes com anorexia nervosa e com osteoporose, comparativamente com aqueles que não apresentam osteoporose<sup>39</sup>.

Adolescentes com anorexia nervosa apresentam elevados níveis de Hormona de Crescimento (GH) (característico de resistência à GH) conjuntamente com baixos níveis de Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1 (IGF-1)<sup>15,30,33,40</sup>, úteis para minimizar o gasto energético durante períodos de desnutrição<sup>30</sup>. Baixos níveis de IGF-1 estão correlacionados com baixos níveis de marcadores de formação óssea e baixa densidade mineral óssea<sup>16,39,41-43</sup> e níveis de GH estão negativamente correlacionadas com o IMC<sup>17</sup>.

Níveis de cortisol têm sido inversamente associados com marcadores, tanto de formação óssea como de massa óssea, em anorexia nervosa<sup>15,30</sup>. A hipercortisolemia contribui para a diminuição da massa óssea<sup>16,33</sup> devido ao facto de o cortisol diminuir a absorção de cálcio a nível intestinal, estimular os osteoclastos e diminuir a formação óssea pelo decréscimo da proliferação dos osteoblastos<sup>40</sup> e inibição da secreção da GH, diminuindo assim a síntese de IGF-1 ao nível do osso<sup>30</sup>. Por último o cortisol pode também aumentar indiretamente a reabsorção óssea pela diminuição da secreção de gonadotrofina e aumento da expressão do recetor da Hormona Paratiroide (PTH) no osteoblasto<sup>30</sup>.

A insulina e a amilina são hormonas anabólicas ósseas que estão diminuídas em doentes com anorexia nervosa estando estas associadas a baixos níveis de marcadores de formação óssea e baixa densidade mineral óssea<sup>16,44,45</sup>.

O peptídeo YY (PYY) é uma hormona anorexigénica entérica, segregada pelas células L do intestino distal que em altos níveis inibem a atividade osteoblástica, sendo deletério para o osso<sup>21,40</sup>. Misra *et al.* referem que níveis desta hormona estão paradoxalmente mais elevados em adolescentes com anorexia nervosa do que nos controlos e que não parece ser adaptativo a um baixo estado energético<sup>46</sup>. Em adição, e ao contrário de muitas anomalias endócrinas que revertem com o ganho de peso, níveis anormais de PYY parecem ser persistentes com a recuperação de peso<sup>21</sup>. Assim, esta hormona parece ser um fator preditivo de baixos níveis de marcadores ósseos em adolescentes com esta patologia<sup>30,46,47</sup>.

A oxitocina tem um efeito anorexigénico e de anabolismo ósseo<sup>40,48</sup> e, segundo Lawson *et al.*, os seus níveis estão mais reduzidos em mulheres com anorexia nervosa do que nos controlos e estão associados a menor densidade mineral óssea<sup>49</sup>.

A anorexia nervosa é caracterizada pela redução marcada de massa gorda e, uma menor, mas significativa, redução de massa magra<sup>18,36,41,50</sup>. O decréscimo da massa magra é um fator importante na diminuição da densidade mineral óssea em adolescentes com anorexia nervosa<sup>18,35,36,41,50-52</sup>. Soyka *et al.* referem ainda que um aumento na massa magra seguido de ganho de peso é fortemente preditivo de aumento coincidente na densidade mineral óssea em adolescentes com anorexia nervosa<sup>41</sup>.

## Marcadores analíticos determinantes do estado ósseo

### Cálcio:

O cálcio é um mineral com um papel fundamental no desenvolvimento e manutenção do esqueleto<sup>23</sup>. É apresentado em três formas distintas: cálcio ionizado livre ( $\text{Ca}^{2+}$ ), ligado a proteínas (fundamentalmente albumina) e complexado (com o fósforo), sendo que apenas a primeira fração é fisiologicamente ativa<sup>53</sup>. A maioria circula

ligado à albumina, sendo que uma alteração nos níveis desta proteína interfere com a concentração total de cálcio<sup>54</sup>.

A concentração de cálcio livre plasmático é regulada pela PTH e 1,25-dihidroxitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D], sendo que o cálcio tem um efeito inibitório na remodelação óssea através da supressão da circulação hormonal da PTH<sup>23</sup>.

Se a ingestão de cálcio é inadequada, este é mobilizado do esqueleto para manter o seu nível sérico sanguíneo dentro dos parâmetros normais<sup>23</sup>. Assim, devido ao facto de 99% do cálcio estar presente no osso e de os mecanismos homeostáticos, por forma a manter a concentração plasmática de cálcio, serem muito efetivos, uma deficiente ingestão deste não causa hipocalcemia<sup>53</sup>.

O cálcio deve ser avaliado quando se suspeita de doença óssea metabólica, contudo não é usual encontrar-se alterado em doentes com osteoporose<sup>53</sup>.

Fósforo:

O fósforo é um mineral importante para manter a saúde óssea<sup>22</sup>. Aproximadamente 85% do fósforo está presente nos ossos e dentes combinado com o cálcio sob forma de hidroxiapatite e cerca de 15% está presente no meio intracelular<sup>55,56</sup>.

A manutenção do fósforo sérico dentro dos intervalos de referência deve-se à sua absorção intestinal, mecanismos de reabsorção do fósforo a nível renal e equilíbrio de fósforo extracelular com o osso ou fluído intracelular<sup>55</sup>. A sua concentração plasmática é influenciada pela PTH e 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sup>54</sup>.

A concentração plasmática de fósforo varia consideravelmente durante a vida, sendo maior durante períodos de rápido crescimento<sup>54,56</sup>.

### PTH:

A PTH é segregada pelas glândulas paratiroides e a sua principal função é manter a concentração sérica de cálcio<sup>22,57</sup>. Em condições fisiológicas promove a formação óssea via recetores nos osteoblastos; por outro lado, em condições de hipocalcemia a PTH estimula a reabsorção óssea no sentido de, a partir do reservatório de cálcio no osso, restaurar a normocalcemia<sup>54</sup>.

### Vitamina D:

A vitamina D obtém-se, fundamentalmente, por síntese a partir da exposição solar<sup>22,58</sup>. A radiação solar ultravioleta B converte a 7-deidrocolesterol em pré-vitamina D<sub>3</sub> e, posteriormente, esta última em vitamina D<sub>3</sub><sup>22</sup>. A vitamina D<sub>3</sub> entra na circulação sanguínea e é convertida a 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] que posteriormente passa à sua forma ativa 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sup>22,59</sup>. A 1,25(OH)<sub>2</sub>D interage com o seu recetor a nível intestinal aumentando a absorção intestinal de cálcio<sup>22</sup>. No esqueleto há um aumento do número de osteoclastos que mobiliza o cálcio quando necessário<sup>22</sup>. O papel do sistema hormonal da vitamina D é manter a absorção intestinal de fósforo e cálcio e fornecer estes iões para a mineralização óssea<sup>22</sup>, sendo que uma deficiência em vitamina D está associada a uma redução da DMO<sup>59</sup>.

### Albumina:

A albumina é a proteína mais abundante do plasma e é sintetizada no fígado<sup>60,61</sup>, servindo de proteína de transporte a numerosas substâncias como é o caso do cálcio, pelo que a interpretação da concentração de cálcio plasmático deve ter em conta os níveis de albumina<sup>61</sup>. A concentração plasmática da albumina depende do suprimento adequado em aminoácidos para a sua síntese<sup>61</sup>. Esta proteína tem um efeito anabólico nos componentes ósseos<sup>60</sup>.

Hormonas tiroideias:

A glândula tiroideia produz principalmente a pró-hormona  $T_4$ , contudo também secreta pequenas quantidades de  $T_3$  ativa, ainda assim a maior parte da  $T_3$  em circulação é derivada via metabolismo da  $T_4$ . A concentração circulante da hormona da tiroide via eixo hipotálamo-hipófise-tiroide e o estado fisiológico da tiroide é controlado por *feedback* negativo pela Hormona Libertadora de Tirotropina (TRH) no hipotálamo e síntese e secreção de TSH na hipófise anterior<sup>62</sup>.

Mais de 95% das hormonas circulantes da tiroide são ligadas a proteínas do plasma e as hormonas  $T_3$  e  $T_4$  livres representam a fração ativa e biologicamente disponível<sup>62</sup>.

As hormonas tiroideias estimulam a atividade do osteoblasto<sup>62</sup>, tendo a  $T_3$  maior influência neste processo. Esta promove a remodelação de matriz óssea, induz a transcrição de IGF-1 e influencia indiretamente a atividade dos osteoclastos pela regulação da OPG<sup>62</sup>. O metabolismo intracelular das hormonas tiroideias pelas Deiodinases D2 (ativador) e D3 (inativador) no osteoblasto é um mecanismo complexo de forma a manter a concentração intracelular de  $T_3$  maioritariamente independente da concentração sérica<sup>63</sup>. Este mecanismo tem um papel importante na preservação da mineralização óssea quando se instala uma doença na tiroide<sup>63</sup>. Contudo, quando há algum distúrbio, o mecanismo de *feedback* local pode não conseguir manter a  $T_3$  no microambiente ósseo provocando repercussões na massa óssea<sup>63</sup>. Em situações de hipertiroidismo, tanto a reabsorção como a formação óssea estão aumentados, contudo as hormonas da tiroide não estimulam a ativação da vitamina D e a absorção de cálcio pode ser diminuída. Em situações de hipotiroidismo o *turnover* ósseo está diminuído. Tanto no hipertiroidismo primário, como na terapia excessiva de hormonas tiroideias pode constatar-se uma perda de massa óssea<sup>22</sup>. A TSH pode exercer um efeito direto no osso independentemente dos níveis hormonais periféricos de  $T_3$  e  $T_4$ , tendo um efeito negativo tanto nos osteoblastos como nos osteoclastos<sup>64</sup>.

## Avaliação da densidade mineral óssea

O *Dual Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA) representa o método de referência para avaliar a massa óssea<sup>9</sup>. O conceito básico operacional deste método consiste na emissão de dois raios X de energia diferente que passam através de uma região corporal de interesse e a atenuação dos raios pode ser medida de acordo com os diferentes compartimentos corporais<sup>22,65</sup>.

Na prática clínica o DEXA é frequentemente utilizado para estimar a densidade mineral óssea ao nível da coluna lombar, fémur proximal, antebraço e corpo inteiro<sup>66</sup>, sendo que a coluna e o fémur proximal são dois locais centrais de medição em densitometria<sup>67</sup>. Este determina o conteúdo mineral ósseo (CMO) em gramas pela área de osso projetada em g/cm<sup>2</sup> (a DMO) e a relação com a DMO expectável para a idade e sexo (*z-score*) ou a comparação com um adulto jovem normal do mesmo sexo (*t-score*)<sup>23,68</sup>. O termo “densidade” refere-se à massa óssea por volume e o termo “mineralização” refere-se à incorporação de minerais ósseos como o cálcio e o fósforo à matriz extracelular existente<sup>54</sup>. A DMO medida pelo DEXA é limitada a medições em duas dimensões, não sendo portanto uma medida verdadeira da densidade óssea, que integra a DMO cortical e trabecular sem uma diferenciação entre estes<sup>22,69</sup>.

Existem outros métodos de avaliação da densidade mineral óssea, contudo o DEXA é o método de eleição devido à sua disponibilidade, rapidez, precisão e baixa dose de radiação<sup>70</sup>.

Em adolescentes, a medição na coluna lombar é o local de eleição para avaliar a DMO ou conteúdo mineral ósseo<sup>26,70</sup>, sendo que o colo de fémur não é uma zona anatómica tão fiável devido à variabilidade significativa no desenvolvimento do esqueleto<sup>26,71</sup>. Tanto o osso trabecular como o cortical são afetados no que respeita à DMO em indivíduos com anorexia nervosa. Contudo, alguns autores sugerem que, em algumas regiões anatómicas, nas mulheres, o osso trabecular, como é o caso da coluna lombar é mais afetado do que regiões anatómicas em que predomina o osso cortical, como a anca<sup>21,51</sup>.

Esta técnica é usada primeiramente no diagnóstico e manuseamento da osteoporose e outras patologias caracterizadas por alterações na DMO, bem como para monitorizar a resposta terapêutica a estas condições<sup>23,66,69</sup>. Assim, o DEXA deve ser realizado em todos os indivíduos com anorexia nervosa com desnutrição, amenorreia superior a 6 meses<sup>6,7,20,72,73</sup>, de acordo com a ISCD, ou suspeita de osteopenia, devendo ser este repetido a cada 1-2 anos de forma a verificar a evolução da DMO ou eventuais efeitos da terapêutica específica<sup>9,19</sup>.

### **Estratégias nutricionais para melhoria do estado de saúde ósseo**

Os indivíduos com anorexia nervosa prolongada apresentam frequentemente osteopenia ou osteoporose resultante do baixo aporte e absorção de cálcio e vitamina D, redução de estrogénios e aumento da secreção de cortisol<sup>9</sup>. Contudo, um adequado aporte de cálcio sustenta mais de 99% dos ossos e dentes, especialmente durante a infância, em que se verifica um acentuado aumento de massa óssea<sup>22</sup>.

Para prevenir a osteopenia é importante assegurar uma ingestão alimentar que permita um crescimento e desenvolvimento dentro dos parâmetros normais, a restituição da menstruação o mais rápido possível e globalmente assegurar a otimização da mineralização óssea durante a adolescência, fator preponderante no que concerne à ocorrência de fraturas<sup>9,73</sup>.

A primeira linha terapêutica para o aumento da DMO ou diminuição da sua perda, em adolescentes com anorexia nervosa, é a recuperação do peso<sup>8,39,74</sup>, havendo evidência de melhoria do estado de saúde ósseo antes da recuperação menstrual<sup>18,19,52</sup>, no entanto, este aumento da DMO só é significativo aquando da recuperação menstrual<sup>18,20</sup>.

A atividade física, benéfica na melhoria da DMO, requer alguma consideração nesta patologia. A atividade física excessiva contribui para a falha no ganho de peso e perpetua a amenorreia persistente contribuindo para a perda óssea<sup>40</sup>. Assim, o seu



efeito benéfico, nestes doentes, poderá ser deletério, devendo ser vigiado o exercício físico na fase ativa da doença<sup>19</sup>.

As recomendações da *Society for Adolescent Medicine* incluem ganho de peso, 1200 a 1500 mg/ dia de cálcio e um multivitamínico que contenha 400 UI de vitamina D<sup>9,75</sup>. Porém, alguns autores referem que a suplementação em cálcio e em vitamina D não melhora a DMO em adolescentes<sup>22,41</sup>, não obstante é necessário manter uma ingestão adequada<sup>22</sup>. Outros estudos em crianças suplementadas em cálcio, ou alimentos enriquecidos em cálcio, mostraram melhoria na massa e DMO ao fim do período de tratamento<sup>19</sup>. Todavia, alguns autores referem que a suplementação em cálcio e em vitamina D é suficiente com o aumento do uso de suplementos de espectro alargado e que a sua suplementação isolada não é efetiva na normalização de DMO nesta patologia<sup>19,41</sup>.



## OBJETIVOS

### Objetivo geral

Estudar a saúde óssea de adolescentes do sexo feminino com anorexia nervosa.

### Objetivos específicos

- Categorizar adolescentes do sexo feminino com anorexia nervosa em termos antropométricos, analíticos, ósseos e dados clínicos relevantes;
- Relacionar a idade, parâmetros antropométricos, dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico e dados de densidade mineral óssea;
- Comparar parâmetros antropométricos, de densidade mineral óssea e dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico entre adolescentes que praticam ou não exercício físico.



## METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal retrospectivo realizado entre setembro de 2015 e março de 2016.

### Amostra

A amostra incluiu doentes seguidas na consulta de Medicina do Adolescente do Serviço de Pediatria e na consulta de Psiquiatria do Centro Hospitalar Tondela-Viseu, Entidade Pública Empresarial (CHTV, E.P.E.), de 2007 a 2013, com o diagnóstico de anorexia nervosa, segundo os critérios do DSM IV, em vigor à data.

Foram eleitos como critérios de inclusão doentes do sexo feminino com idades compreendidas entre os 10 e os 19 anos que realizaram densitometria óssea.

## Procedimentos

A recolha de dados foi realizada entre novembro de 2015 e janeiro de 2016 e consistiu na consulta dos processos clínicos, em formato eletrónico, recorrendo a ferramentas informáticas de apoio hospitalar, e em formato papel, do arquivo clínico.

Após consentimento do Conselho de Administração do Centro Hospitalar Tondela-Viseu, E.P.E. para a realização da recolha dos dados obteve-se a aprovação pela Comissão de Ética do mesmo Centro Hospitalar.

## Material e métodos

Foi realizada a recolha dos dados antropométricos, analíticos, ósseos e dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico.

### Dados antropométricos:

O peso e a altura foram medidos pela equipa de enfermagem com recurso a uma báscula seca 799® com estadiómetro incorporado.

Posteriormente, foi calculado o IMC segundo a fórmula de *Quetelet*<sup>76</sup>, através do quociente entre o peso (kg) e o quadrado da estatura (m) e os respetivos *z-score* para a estatura e IMC com recurso à ferramenta *WHO Anthro Plus*<sup>77</sup>.

O *z-score* para o peso não é aplicável a indivíduos com idade superior a 10 anos pelo que não foi calculado<sup>78</sup>.

Os dados antropométricos recolhidos foram aqueles que mais se aproximavam da data da densitometria óssea.

**Dados analíticos:**

Foram recolhidos parâmetros analíticos interferentes com o estado de saúde ósseo, tais como cálcio, fósforo, albumina, TSH, T<sub>4</sub> livre, T<sub>3</sub> livre, PTH e vitamina D. Contudo os parâmetros PTH, T<sub>3</sub> livre e vitamina D não foram analisados pela escassez de dados referentes aos mesmos. Os dados analíticos recolhidos para o presente estudo foram aqueles que mais se aproximavam da data da densitometria óssea. Os valores de referência para cada parâmetro são os adotados pelo laboratório interno do centro hospitalar e encontram-se descritos na Tabela 1.

**Tabela 1:** Valores de referência dos parâmetros analíticos estudados

Parâmetro analítico	Valores de referência	
	Limite inferior	Limite superior
Cálcio	4,2 mEq/L	5,1 mEq/L
Fósforo		
< 15 anos de idade	4,0 mg/dL	7,0 mg/dL
≥ 15 anos de idade	2,8 mg/dL	4,1 mg/dL
Albumina	3,5 mg/dL	5,0 mg/dL
TSH	0,350 mUI/L	5,500 mUI/L
T <sub>4</sub> livre	0,9 ug/dL	1,8 ug/dL

TSH: Hormona Estimulante da Tiroide

**Densitometria óssea:**

O exame de densitometria óssea foi realizado com recurso ao aparelho de densitometria óssea Norland-X 36®, no qual foram efetuadas medições da densidade mineral óssea (DMO; g/ cm<sup>2</sup>), conteúdo mineral ósseo (CMO; g) e área óssea (cm<sup>2</sup>), ao nível da coluna lombar ântero-posterior (L2-L4), colo do fémur, trocânter e triângulo de Ward.

Uma vez que o aparelho de densitometria óssea existente no hospital não tem introduzidos os valores de referência para idades inferiores a 20 anos, este não calcula os *z-score* referentes a este período. Posto isto, após recolha dos valores obtidos em exame, recorreu-se às tabelas de referência de Zanchetta *et al.*<sup>79</sup>, para o cálculo dos *z-score* para a DMO pela fórmula:

$$z\text{-score} = \frac{(\text{DMO}_{\text{real}} - \text{DMO}_{\text{expectável}})}{\text{desvio padrão}}$$

em que a  $\text{DMO}_{\text{expectável}}$  e o desvio padrão são respeitantes aos valores de referência.

#### Dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico:

Foram recolhidas informações, de acordo com o protocolo de primeira consulta, relativas ao exame físico, tais como acrocianose, mãos frias, alopecia e lanugo e outras características como conflitos familiares, isolamento, irritabilidade e comportamentos purgativos. Foi ainda obtida informação relativa ao tempo de amenorreia, em dias, no decorrer das consultas subsequentes até à data da realização da osteodensitometria.

#### Análise estatística

A análise dos dados foi realizada com recurso ao programa *IBM SPSS®* versão 22.0 para *Windows*.

A análise descritiva incluiu o cálculo de médias (M), desvios-padrão (s) e de frequências absolutas (n) e relativas (%).

O estudo da normalidade das distribuições das variáveis cardinais foi realizado pelos testes de Shapiro-Wilk e de Kolmogorov-Smirnov (consoante o tamanho amostral). Após esta análise verificou-se que todas as variáveis cardinais apresentavam distribuição próxima da Normal à exceção da idade.

A associação entre pares de variáveis foi medida pelo coeficiente de correlação de Pearson (r), exceto nas associações com a idade, em que foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman ( $r_s$ ). Considerou-se<sup>80</sup>:

- correlação muito forte quando  $|R|$  ou  $|r_s|$  pertence ao intervalo [0,9; 1];
- correlação forte quando  $|R|$  ou  $|r_s|$  pertence ao intervalo [0,75; 0,9[;
- correlação moderada quando  $|R|$  ou  $|r_s|$  pertence ao intervalo [0,5; 0,75[;



- correlação fraca quando  $|R|$  ou  $|r_s|$  pertence ao intervalo  $[0,25; 0,5[$ ;
- correlação muito fraca quando  $|R|$  ou  $|r_s|$  pertence ao intervalo  $[0,0; 0,25[$ ;

Para a análise da comparação do exercício físico com outras variáveis foi realizado o teste t de student para amostras independentes.

Rejeitou-se a hipótese nula quando o nível de significância crítico para a sua rejeição ( $p$ ) foi inferior a 0,05.



## RESULTADOS

A amostra é constituída por 40 indivíduos do sexo feminino, com idades compreendidas entre os 13 e os 18 anos ( $M = 16$ ;  $s = 2$ ).

Relativamente à descrição antropométrica da amostra os indivíduos apresentam um *z-score* de altura para a idade entre -1,56 e 1,91 ( $M = -0,20$ ;  $s = 0,85$ ) e no que concerne ao *z-score* de IMC para a idade, apenas uma minoria dos indivíduos apresentam baixo peso/ baixo peso severo ( $n = 4$ ; 10%).

Pela Tabela 2, referente à categorização da amostra face aos intervalos de referência dos parâmetros analíticos estudados, verifica-se que, no que concerne aos parâmetros analisados, todos com exceção do fósforo se apresentavam quase na totalidade dentro dos valores de referência. Relativamente ao fósforo, cerca de metade dos indivíduos apresenta este parâmetro dentro dos valores de referência e outra metade apresenta o fósforo acima dos valores de referência.

Visto os parâmetros analíticos estarem quase na totalidade dentro dos valores de referência não foram realizadas correlações com outras variáveis, tendo sido feita apenas análise descritiva dos resultados obtidos.

**Tabela 2:** Categorização da amostra face aos intervalos de referência dos parâmetros analíticos estudados

	Inferior ao intervalo de referência		Dentro do intervalo de referência		Superior ao intervalo de referência		Total
	N	%	n	%	n	%	N
<b>Cálcio</b>	-	-	25	96,2	1	3,8	26
<b>Fósforo</b>	1	4,0	14	56,0	10	40,0	25
<b>Albumina</b>	-	-	10	100,0	-	-	10
<b>TSH</b>	-	-	19	100,0	-	-	19
<b>T<sub>4</sub> livre</b>	2	16,7	10	83,3	-	-	12

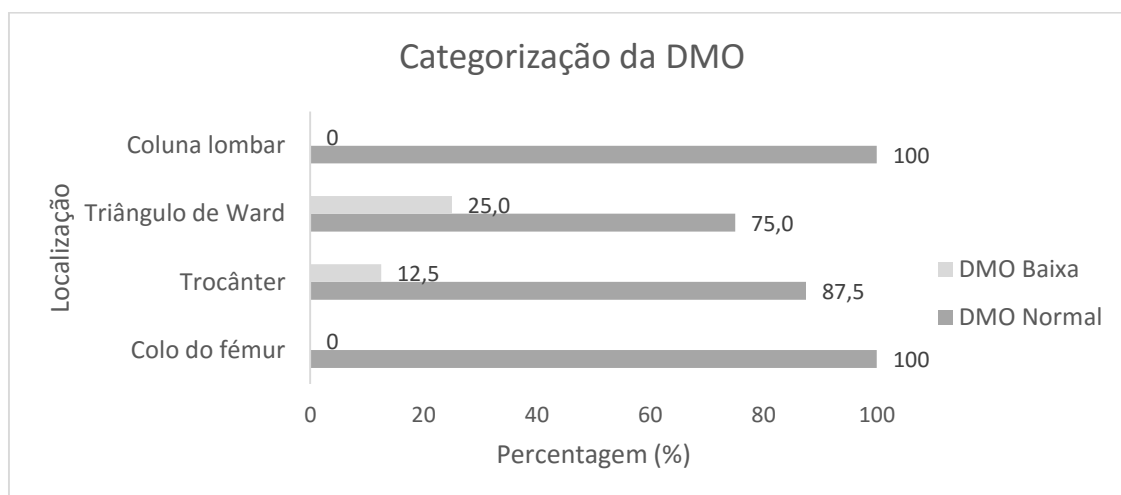
TSH: Hormona Estimulante da Tireoide; T<sub>4</sub> livre: Tiroxina<sub>4</sub> livre; n: Frequência absoluta; %: Frequência relativa

Relativamente ao exame de densitometria óssea, na Tabela 3 caracterizam-se os parâmetros obtidos em função da localização e no Gráfico 1 apresenta-se a categorização da DMO nos diferentes locais. Neste último, podemos observar que o triângulo de *Ward* é o local onde existe maior proporção de indivíduos com baixa DMO, contrariamente à coluna lombar e ao colo do fémur para os quais não existe nenhum indivíduo categorizado como tendo baixa DMO.

**Tabela 3:** Caracterização de parâmetros ósseos em função da localização

		Colo do fémur	Trocânter	Triângulo de <i>Ward</i>	Coluna lombar
<b>DMO</b>	M (s)	0,849 (0,071)	0,649 (0,073)	0,733 (0,088)	0,914 (0,100)
<b>CMO</b>		4,006 (0,413)	6,311 (1,292)	0,733 (0,088)	132,2 (601,0)
<b>Área</b>		4,73 (0,42)	9,70 (1,56)	1,00 (0,00)	40,65 (3,18)
<b>z-score</b>		-0,33 (0,30)	-0,89 (0,75)	-1,57 (0,65)	-0,25 (0,42)

DMO: Densidade mineral óssea; CMO: Conteúdo mineral ósseo; M: Média; s: Desvio-padrão

**Gráfico 1:** Categorização da densidade mineral óssea

DMO: Densidade mineral óssea

Pela Tabela 4, no que concerne à existência de dados clínicos relevantes pode verificar-se que, relativamente aos dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico, a irritabilidade é a característica observada em maior proporção, contrariamente à existência de comportamentos purgativos. Já no que diz respeito aos sinais clínicos, a presença de mãos frias é o sinal clínico observado em maior proporção, sendo que a existência de alopecia é o que menos se observa.

**Tabela 4:** Frequência de dados clínicos relevantes

	Sim		Não	
	n	%	n	%
<b>Dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico</b>				
Exercício físico	18	51,4	17	48,6
Comportamentos purgativos	8	22,2	28	77,8
Irritabilidade	26	74,3	9	25,7
Isolamento	18	52,9	16	47,1
Conflitos familiares	13	37,1	22	62,9
<b>Sinais clínicos</b>				
Acrocianose	21	61,8	13	38,2
Mãos frias	26	76,5	8	23,5
Alopecia	14	41,2	20	58,8
Lanugo	22	64,7	12	35,3

n: Frequência absoluta; %: Frequência relativa

A Tabela 5 refere-se à correlação entre idade, parâmetros antropométricos, dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico e dados de densidade mineral óssea.

Em relação à associação entre a idade e outros parâmetros analisados, nenhuma das relações é forte ou muito forte. As relações entre a idade e o *z-score* de IMC e entre a idade e o *z-score* de DMO do triângulo de *Ward* são moderadas, sendo a primeira negativa, o que indica que o *z-score* de IMC é inferior quanto mais elevada a idade. As restantes relações apresentadas são positivas e variam entre muito fracas e fracas.

Quanto à relação entre parâmetros antropométricos, dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico e dados de densitometria óssea, a Tabela 5 mostra que nenhuma das relações é muito forte, embora existam relações fortes e moderadas entre alguns parâmetros. Uma relação fraca, mas com tendência a ser estatisticamente significativa, ocorre entre o *z-score* de IMC para a idade e o *z-score* de DMO do triângulo de *Ward*. As restantes relações variam entre positivas e negativas e fracas e muito fracas.

A Tabela 6, referente à comparação entre grupos que realizam ou não exercício físico relativamente a parâmetros antropométricos, dados de densitometria óssea e dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico, mostra que a média do tempo de amenorreia é maior no grupo de indivíduos que não realiza exercício físico comparativamente aos que realizam. Embora as que não praticam exercício físico apresentem valores médios de *z-score* de IMC para a idade, *z-score* de DMO do colo do fémur, *z-score* de DMO do trocânter, *z-score* de DMO do triângulo de *Ward* e *z-score* de DMO da coluna lombar mais baixos, não há diferenças significativas entre os dois grupos.

**Tabela 5:** Correlação entre idade, parâmetros antropométricos, dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico e dados de densidade mineral óssea

	Idade (anos)	z-score IMC idade	Tempo de amenorreia	z-score DMO colo do fêmur	z-score DMO trocânter	z-score DMO triângulo Ward
	$r_s^*$ (p)	$r^{**}$ (p)				
z-score IMC idade	-0,524 (0,001)	-	-	-	-	-
Tempo de amenorreia	0,342 (0,070)	0,014 (0,941)	-	-	-	-
z-score DMO colo do fêmur	0,187 (0,247)	-0,030 (0,853)	0,008 (0,969)	-	-	-
z-score DMO trocânter	0,419 (0,007)	-0,180 (0,268)	0,172 (0,373)	0,657 ( $<0,001$ )	-	-
z-score DMO triângulo Ward	0,559 ( $<0,001$ )	-0,305 (0,055)	0,115 (0,551)	0,773 ( $<0,001$ )	0,780 ( $<0,001$ )	-
z-score DMO coluna lombar	0,016 (0,921)	0,075 (0,643)	-0,039 (0,842)	0,414 (0,008)	0,331 (0,037)	0,307 (0,054)

\* $r_s$ : coeficiente de correlação de Spearman; \*\* $r$ : Coeficiente de correlação de Pearson

IMC: Índice de Massa Corporal; DMO: Densidade Mineral Óssea

**Tabela 6:** Comparação entre grupos que realizam ou não exercício físico relativamente a parâmetros antropométricos, dados de densitometria óssea e dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico

	Exercício físico				p*
	Sim		Não		
	M	s	M	s	
Parâmetros antropométricos					
z-score IMC idade	-0,70	1,10	-1,06	0,86	0,307
Densitometria óssea					
z-score DMO colo do fémur	-0,32	0,26	-0,40	0,30	0,404
z-score DMO trocânter	-0,85	0,82	-1,04	0,66	0,473
z-score DMO triângulo Ward	-1,50	0,66	-1,65	0,68	0,522
z-score DMO coluna lombar	-0,16	0,42	-0,40	0,40	0,095
Dados clínicos coadjuvantes ao diagnóstico					
Tempo de amenorreia (dias)	286	232	480	431	0,149

\*Teste t para amostras independentes

IMC: Índice de Massa Corporal; DMO: Densidade mineral óssea; M: Média; s: Desvio-padrão





## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Segundo o descrito na literatura, a anorexia nervosa é mais prevalente na adolescência com um rácio muito superior no sexo feminino comparativamente ao sexo masculino<sup>1</sup>.

Relativamente ao baixo número de indivíduos relatados como apresentando baixo peso/ baixo peso severo quando categorizados quanto ao *z-score* do IMC para a idade, pode dever-se ao desconhecimento da evolução da doença até à data da realização do exame de densitometria óssea, o que pode implicar uma melhoria franca do estado nutricional até então, visto que a densitometria óssea é um exame complementar recomendado ser realizado após 6 meses de amenorreia<sup>73</sup>.

Os indivíduos com anorexia nervosa nem sempre apresentam valores laboratoriais alterados<sup>1</sup>. Uma justificação para esta evidência pode dever-se aos mecanismos efetivos para manter a concentração plasmática dos parâmetros analíticos dentro dos valores de referência até estados avanços de debilidade e, por outro lado, devido ao facto de a extensão das mudanças metabólicas depender da severidade e duração da doença antes do tratamento, bem como, da redução da ingestão alimentar e da quantidade de peso perdido<sup>81</sup>.

No que concerne ao fósforo, está descrito na literatura que indivíduos com esta patologia apresentam hipofosfatemia<sup>1</sup>. O que pode explicar, neste estudo, a evidência de cerca de metade dos indivíduos apresentarem fósforo sérico acima dos valores de referência podem ser as altas concentrações de fósforo estarem associadas com rápido crescimento do esqueleto e mineralização, por exemplo, durante a infância precoce e puberdade<sup>22</sup>, assim como, pelo aumento da ingestão ou absorção de fósforo pelo uso de laxantes, comum neste tipo de patologia<sup>82</sup>.

No que diz respeito à avaliação pelo DEXA de adolescentes com doença que possa afetar o esqueleto, como a anorexia nervosa, o ISCD refere que a medição da DMO por esta técnica é parte da compreensão da saúde óssea nestes doentes. A coluna lombar ântero-posterior e, o esqueleto total exceto crânio, são referidos, na literatura, como os locais do esqueleto mais exatos e reprodutíveis para obter medições relativas ao conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea, embora outros locais possam ser úteis dependendo da necessidade clínica<sup>83</sup>.

Relativamente aos valores de DMO e aos respetivos *z-score*, devido às diferentes composições e proporções do osso, nos vários locais do esqueleto, medições em locais diferentes apresentam resultados díspares<sup>84</sup>. A DMO aumenta em certas regiões do esqueleto cerca de 4% por ano desde a infância até à adolescência tardia, momento em que grande parte da massa óssea é adquirida. Esta pode variar de 1,2% para a estimativa da densidade verdadeira da vertebra L3 a 6,6% para o colo do fémur<sup>22</sup>.

O esqueleto é composto por dois tipos de osso: o osso cortical e o osso trabecular. O primeiro, também chamado osso compacto, é tipicamente encontrado nos eixos dos ossos longos e nas placas terminais vertebrais. O osso trabecular está localizado no corpo das vértebras, pélvis e parte distal dos ossos longos<sup>67</sup>. As vértebras consistem em 50% de osso trabecular e 50% osso cortical, enquanto o colo do fémur consiste em 30% de osso trabecular e 70% de osso cortical. O esqueleto é constituído 80% por osso cortical, contudo, o osso trabecular tem uma taxa metabólica por unidade de volume e uma frequência de remodelação mais elevadas<sup>67</sup>, sendo mais sensível no que se refere à monitorização de mudanças ósseas no decurso de doenças, como a

osteoporose, e avaliação na resposta ao tratamento<sup>85</sup>. Os défices de osso trabecular e cortical podem ser explicados respetivamente pela falta de estrogénios e pela reduzida carga mecânica devido à diminuição da massa muscular e peso corporal<sup>86</sup>. Alguns trabalhos de investigação, em doentes com anorexia nervosa, têm demonstrado que a DMO na coluna e fémur aumentam após a normalização do peso corporal, num curto período de tempo<sup>87</sup>. Outros referem que, embora o ganho de peso na mulher adolescente com anorexia nervosa possa melhorar a DMO do colo do fémur, a recuperação menstrual também melhora a DMO da coluna vertebral<sup>40</sup>. Em doentes que recuperam o peso e a menstruação, a área de densidade óssea da coluna aumenta a uma taxa intermédia de 1,4% por ano<sup>88</sup>.

Neste estudo, o facto de a coluna lombar não ter nenhum indivíduo categorizado como tendo baixa DMO e apresentar um *z-score* de DMO superior, relativamente aos outros locais analisados, pode ser devido à frequência de remodelação ser mais elevada no osso trabecular, mais predominante nas vértebras, o que faz com que, na altura da densitometria óssea possa já ter existido uma melhoria no estado nutricional que tenha induzido alterações positivas na DMO nessa zona, mesmo embora o facto de a menstruação não ter sido restabelecida.

O facto de não existir, também, nenhum indivíduo com baixa DMO no colo do fémur pode ser explicado pela recuperação de peso que possa já ter ocorrido na altura da realização da densitometria óssea e, por outro lado, pode dever-se ao posicionamento do doente na realização do exame. A rotação interna e externa do fémur pode causar um aumento na medição da DMO, pois os valores de DMO do colo do fémur podem ser afetados pelo grau de rotação do fémur proximal e pela posição do próprio colo do fémur<sup>22</sup>.

No fémur proximal o triângulo de *Ward* representa a zona menos precisa para a medição da DMO, resultado do seu tamanho reduzido e da variação de acordo com a máquina e a calibração usadas<sup>89</sup>. Esta região representa a mais baixa DMO observada no fémur, visto ser formada pela interseção de três feixes trabeculares<sup>90</sup>, sendo a zona onde mais cedo perde ou mais cedo melhora a DMO<sup>91</sup>. Isto faz com que esta região não

deva ser usada para a interpretação da DMO, uma vez que pode sobrestimar a osteoporose podendo levar a resultados falso-positivos<sup>92</sup>.

Uma provável justificação quanto à constatação, no presente estudo, de que adolescentes na fase mais precoce da adolescência apresentam *z-score* do IMC para a idade mais elevado do que aquelas que se encontram na fase da adolescência mais tardia, pode ser pelo diagnóstico em idade precoce se correlacionar positivamente com melhor *outcome* e prognóstico das doentes em causa<sup>93,94</sup>. Assim, adolescentes mais velhas podem apresentar um estado nutricional mais deficitário devido à fase do decurso da doença onde se encontram ou à severidade da própria patologia.

Existe uma relação positiva entre o IMC e a DMO, muito devido à combinação de fatores incluindo produção de estrogénios a nível periférico pelo tecido adiposo, carga mecânica do peso sobre os ossos e influência metabólica na composição corporal<sup>19</sup>. Neste estudo não se verificou uma relação positiva entre estes dois parâmetros, contudo, existem alguns fatores confundidores como o ganho de peso e a recuperação clínica que não foram mensurados.

No presente trabalho não foi observada associação entre o tempo de amenorreia e a DMO, como seria de esperar de acordo com a literatura. No entanto, fatores como o ganho de peso e a leptina, que é influente na DMO e independente da duração da amenorreia, não foram contabilizados fazendo com que a relação entre estes dois fatores não seja de fácil interpretação.

A amenorreia, presente em muitas doentes com anorexia nervosa é usualmente uma consequência da perda de peso, resultante de, entre outros fatores, da prática de atividade física excessiva<sup>1</sup>. Adolescentes que praticavam exercício físico apresentaram menor tempo de amenorreia do que aquelas que não praticavam exercício físico, o que não corrobora a literatura; apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas entre os dois grupos, a análise das médias vai ao encontro desta ideia. O exercício físico excessivo em doentes com anorexia nervosa perpetua a amenorreia hipotalâmica<sup>95</sup>, estando descrito na literatura que estas usam comumente o exercício aeróbio compulsivo com o propósito de perder peso<sup>96</sup>. Todavia, neste estudo, não se

determinou o tempo total de amenorreia nos dois grupos, apenas o tempo de amenorreia à data da densitometria. Por outro lado, está descrito em literatura que a amenorreia associada ao exercício físico extremo usualmente melhora com o ganho de peso<sup>97</sup>, contudo a variação de peso também não foi contabilizada. Outros fatores a ter em conta referem-se, por um lado à realização de exercício físico não ser referido pelas adolescentes no âmbito de consulta, o que pode enviesar os resultados obtidos, e por outro lado o tipo de exercício físico realizado e o estado clínico. Por exemplo, adolescentes confinadas ao leito realizam atividade física apenas com exercícios isométricos<sup>98</sup> devido à sua condição física e clínica debilitada. Contudo, a amenorreia não se prende apenas com o exercício físico, havendo outros fatores preponderantes como a hipercortisolemia que não foram contabilizados<sup>99</sup>.

Para além da impossibilidade de considerar todos os aspetos influentes nas relações estudadas, como análise crítica global do presente estudo de notar algumas limitações de natureza técnica que inviabilizaram uma abordagem mais integral no que concerne à patologia em estudo e às suas comorbilidades associadas.

Assim, no que concerne à metodologia adotada, de notar a máquina de densitometria óssea ser antiquada, o que condicionou uma análise da densitometria óssea mais completa e a possibilidade de obter outros resultados, possíveis num exame deste tipo, como de composição corporal. Por outro lado, o facto de os valores de referência dos *z-score* para idades inferiores a 20 anos não serem parte integrante da análise da densidade mineral óssea leva a que o diagnóstico na prática clínica seja realizado de acordo com os valores de referência da idade adulta, com recurso ao *t-score*, bem como o uso das categorias de diagnóstico para a idade adulta, osteopenia e osteoporose, o que não é indicado para o uso em idade pediátrica. Este facto leva a que a baixa densidade mineral óssea verificada na população de doentes adolescentes com anorexia nervosa que recorrem ao Centro Hospitalar seja sobrevalorizada, visto as categorias de avaliação da DMO para a idade pediátrica apresentarem um espectro de diagnóstico mais alargado.

O presente estudo, sendo retrospectivo transversal e tendo sido realizado em âmbito hospitalar, apresenta limitações que decorrem da natureza deste tipo de

estudos e da prática clínica e rotina hospitalares, respetivamente. Assim, no que toca ao desenho/ estrutura do estudo, a recolha de dados efetuada depende do que existe em processo clínico hospitalar com respeito pelo protocolo de consulta. Relativamente à prática e rotina hospitalares, algumas limitações referem-se ao pedido das densitometrias ósseas, que não são coordenadas em termos de tempo nem conciliadas com outros exames, tal como análises clínicas e dados antropométricos e à existência de apenas um exame de densitometria óssea, o que não possibilita a análise da evolução clínica relativamente a este parâmetro.

Tendo em conta as constatações evidenciadas no presente estudo sugerem-se alguns pontos de reflexão com o propósito de acrescentar valia relativamente ao modelo organizacional, quer a nível do planeamento, quer a nível da intervenção, numa patologia de cariz reconhecidamente delicado, com espectro alargado de compromisso orgânico e consequentes comorbilidades associadas.

Assim, propõe-se:

- Criar procedimentos operacionais padronizados para os registos;
- Ponderar a inclusão de outros marcadores de diagnóstico, relevantes para a avaliação do estado de saúde ósseo, designadamente  $T_3$  livre, cortisol, vitamina D e PTH;
- Considerar a introdução dos valores de referência para a idade pediátrica no DEXA;
- Providenciar a monitorização da DMO no sentido de permitir a análise da sua evolução e inferir a resposta à terapêutica instituída;
- Diferenciar e quantificar o tipo de atividade/ exercício físico efetuado.

A avaliação da densidade mineral óssea, como parâmetro de análise da saúde óssea na amostra estudada, permitiu observar a evidência de baixa DMO, em locais como o triângulo de *Ward* e o trocânter.

Este trabalho reforça a necessidade de abordar a anorexia nervosa de um modo integrado e multidisciplinar no sentido de uma precoce identificação dos sinais de alerta,

pois só assim será possível intervir, em tempo útil, na prevenção de complicações orgânicas e comorbilidades que, em casos extremos, podem ser irreversíveis, designadamente a nível da perda de densidade mineral óssea. A atuação de um nutricionista nestas equipas multidisciplinares é de extrema valia no rastreio/ avaliação/ monitorização do estado nutricional, bem como no que diz respeito à alimentação, em particular à adequação das recomendações nutricionais em função do quadro clínico respeitante à saúde óssea.





## REFERÊNCIAS

1. American Psychiatric Association. Anorexia Nervosa. In Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Fifth edition. Washington, DC and London, England: 2013. 089042554X. Arlington (2013).
2. World Health Organization. Maternal, Newborn, Child and Adolescent Health: Adolescent Development. at [http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/topics/adolescence/dev/en/](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/adolescence/dev/en/)
3. Vieth, H. Mental Health Policies in Europe Early Identification. 11, (2009).
4. Hay, P. et al. Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Eating Disorders. 48, 1–62 (2014).
5. Encyclopedia of Women's Health. New York: Loue, S and Sajatovic, M, 2004. 0-306-48073-5.
6. Lock, J. & Via, M. Practice Parameter for the Assessment and Treatment of Children and Adolescents With Eating Disorders. JAAC 54, 412–425 (2015).
7. Casanova, T., Santos, P., Figueiredo, C. & Silveira, A. Anorexia Nervosa : Proposta de Linhas Orientadoras. Acta Pediátrica Port. Secção Med. do Adolesc. da Soc. Port. Pediatr. 133–135 (2009).

8. The Society for Adolescent Health and Medicine. Position Paper of the Society for Adolescent Health and Medicine : Medical Management of Restrictive Eating Disorders in Adolescents and Young Adults. *J. Adolesc. Heal.* 56, 121–125 (2015).
9. Miján-de-la-Torre, A., Mateo-de-Silleras, B., Martín-de-la-Torre, E., Redondo-del-Rio, M. P. & Pérez-García, A. Nutrition in Eating Disorders. The European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. (2008).
10. World Health Organization. Database on Child Growth and Malnutrition. (1997).
11. World Health Organization. Growth Reference 5-19 years: BMI-for-age (5-19 years). (2007). at <[http://www.who.int/growthref/who2007\\_bmi\\_for\\_age/en/](http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/)>
12. World Health Organization. Global Database on Body Mass Index - BMI classification. (2006). at <[http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html)>
13. Nature Publishing Group. Diagnostic markers. at <[http://www.nature.com/subjects/diagnostic-markers?WT.ac=search\\_subjects\\_latestres\\_diagnostic\\_markers#research-and-reviews](http://www.nature.com/subjects/diagnostic-markers?WT.ac=search_subjects_latestres_diagnostic_markers#research-and-reviews)>
14. Eating Disorders: An Encyclopedia of Causes, Treatment, and Prevention. Santa Barbara, California, Denver, Colorado, Oxford, England: Reel, Justine, 2013. 978-1-4408-0058-0. (Greenwood).
15. Mehler, P. S. & Brown, C. Anorexia Nervosa – Medical Complications. 1–8 (2015).
16. Dede, A. D., Lyritis, G. P. & Tournis, S. Bone Disease in Anorexia Nervosa. *Hormones (Athens)*. 13, 38–56 (2014).
17. Warren, M. P. Endocrine Manifestations of Eating Disorders. (2011).
18. Miller, K. K. et al. Determinants of Skeletal Loss and Recovery in Anorexia Nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 2931–2937 (2006).

19. Katzman, D. K. & Misra, M. Bone Health in Adolescent Females With Anorexia Nervosa: What is a Clinician to do? *Int. J. Eat. Disord.* 46, 456–460 (2013).
20. Golden, N. H. et al. Update on the Medical Management of Eating Disorders in Adolescents. *J. Adolesc. Heal.* 56, 370–375 (2015).
21. Misra, M. & Klibanski, A. Anorexia Nervosa and Bone. *J Clin Endocrinol* 221, R163–R176 (2014).
22. Holick, M. & Nieves, J. *Nutrition and Bone Health*. Second Edition. New York: Bendich, A, 2015. 978-1-4939-2000-6.
23. National Osteoporosis Foundation. *Clinician’s Guide and Treatment*. (2010).
24. Abraham, A., Cohen, A. D. I. & Shane, E. Premenopausal Bone Health: Osteoporosis in Premenopausal Women. 56, 722–729 (2014).
25. World Health Organization. *Assessment of Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis*. (1994).
26. International Society For Clinical Densitometry. 2007 Pediatric Official The Positions of the International Society For Clinical Densitometry. (2007).
27. International Society For Clinical Densitometry. 2013 ISCD Official Positions- Pediatric: Skeletal Health Assessment in Children from Infancy to Adolescence. (2013). at <<http://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-pediatric/>>
28. Soyka, L. A., Grinspoon, S., Levitsky, L., Herzog, D. B. & Klibanski, A. The Effects of Anorexia Nervosa on Bone Metabolism in Female Adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, (1999).
29. Kueper, J., Beyth, S., Liebergall, M., Kaplan, L. & Schroeder, J. E. Evidence for the Adverse Effect of Starvation on Bone Quality: A Review of the Literature. *Int. J. Endocrinol.* 2015, 1–7 (2015).
30. Fazeli, P. K. & Klibanski, A. Anorexia Nervosa and Bone Metabolism. *Bone* 66, 39–45 (2014).

31. Franzoni, E. et al. Follow-up of Bone Mineral Density and Body Composition in Adolescents With Restrictive Anorexia Nervosa: Role of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. *Eur. J. Clin. Nutr.* 68:254, 247–252 (2014).
32. Czyzyk, B. Functional Hypothalamic Amenorrhea and its Influence on Women's Health. 1049–1056 (2014).
33. Foo, J.-P., Hamnvik, O.-P. R. & Mantzoros, C. S. Optimizing Bone Health in Anorexia Nervosa and Hypothalamic Amenorrhea: New Trials and Tribulations. *Metabolism*. 61, 899–905 (2012).
34. Riggs, B. L. The Mechanisms of Estrogen Regulation of Bone Resorption. *J. Clin. Invest.* 106, 1203–1204 (2000).
35. Misra, M. & Klibanski, A. Anorexia Nervosa, Obesity and Bone Metabolism. *Pediatr Endocrinol Rev.* 11, 21–33 (2014).
36. Faje, A. T. et al. Adolescent Girls With Anorexia Nervosa Have Impaired Cortical and Trabecular Microarchitecture and Lower Estimated Bone Strength at the Distal Radius. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, 1923–9 (2013).
37. Misra, M. et al. Secretory Dynamics of Leptin in Adolescent Girls With Anorexia Nervosa and Healthy Adolescents. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289, E373–81 (2005).
38. Legroux-Gérot, I. et al. Anorexia Nervosa, Osteoporosis and Circulating Leptin: The Missing Link. *Osteoporos. Int.* 21, 1715–1722 (2010).
39. Fernández-Soto, M., González-Jiménez, A., Chamorro-Fernández, M. & Leyva-Martínez, S. Clinical and Hormonal Variables Related to Bone Mass Loss in Anorexia Nervosa Patients. *Anorexia* (2013).
40. Zuckermann-Levin, N., Hochberg, Z. & Latzer, Y. Bone Health in Eating Disorders. *Obes. Rev.* 15, 215–223 (2014).
41. Soyka, L. A. et al. Abnormal Bone Mineral Accrual in Adolescent Girls With Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 4177–4185 (2002).

42. Misra, M. et al. Alterations in Growth Hormone Secretory Dynamics in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa and Effects on Bone Metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 5615–5623 (2003).
43. Grinspoon, S., Thomas, L., Miller, K., Herzog, D. & Klibanski, A. Effects of Recombinant Human IGF-I and Oral Contraceptive Administration on Bone Density in Anorexia Nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 2883–2891 (2002).
44. Misra, M. et al. Relationships Between Serum Adipokines, Insulin Levels, and Bone Density in Girls with Anorexia Nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92, 2046–2052 (2007).
45. Wojcik, M. H., Meenaghan, E., Lawson, E. A., Misra, M. & Miller, K. K. Reduced Amylin Levels Are Associated with Low Bone Mineral Density in Women with Anorexia Nervosa. *NIH Public Access* 46, 796–800 (2011).
46. Misra, M. et al. Elevated Peptide YY Levels in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 1027–1033 (2006).
47. Utz, A. et al. Peptide YY (PYY) Levels and Bone Mineral Density (BMD) in Women with Anorexia Nervosa. *NIH Public Access* 43, 135–139 (2009).
48. Tamma, R. et al. Oxytocin is an Anabolic Bone Hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 7149–7154 (2009).
49. Lawson, E. A. et al. Decreased Nocturnal Oxytocin Levels in Anorexia Nervosa are Associated with Low Bone Mineral Density and Fat Mass. *J. Clin. Psychiatry* 72, 1546–51 (2011).
50. Misra, M. et al. Growth Hormone and Ghrelin Responses to an Oral Glucose Load in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa and Controls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 1605–1612 (2004).
51. Misra, M. et al. Hip Structural Analysis in Adolescent Boys with Anorexia Nervosa and Controls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, 2952–2958 (2013).

52. Misra, M. et al. Weight Gain and Restoration of Menses as Predictors of Bone Mineral Density Change in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa-1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 93, 1231–1237 (2008).
53. Marshall, W. Calcium (Serum, Plasma, Blood). *Association for Clinical Biochemistry.* 1–6 (2012).
54. Calcium and Bone Disorders in Children and Adolescents. Switzerland: Allgrove, J, Shaw, N, 2009. 978-3-8055-9161-4.
55. Fukumoto, S. Phosphate Metabolism and Vitamin D. *Bonekey Rep.* 3, 1–5 (2014).
56. Troup, S. Phosphate (Serum, Plasma, Urine). *Association for Clinical Biochemistry.* (2012).
57. Marshall, W. Parathyroid Hormone (Serum, Plasma). *Association for Clinical Biochemistry.* 1–6 (2012).
58. National Institutes of Health: Office of Dietary Supplements. Vitamin D Fact Sheet for Consumers. (2016).
59. Roberts, B. Vitamin D (Serum, Plasma). *Association for Clinical Biochemistry.* (2012).
60. Yadav, M. et al. Role of Serum Albumin in Fracture Healing. 6, 452–455 (2015).
61. Marshall, W. Albumin (Serum, Plasma ). *Association for Clinical Biochemistry.* (2012).
62. Williams, G. R. Thyroid Hormone Actions in Cartilage and Bone. 3–13 (2013).
63. Cardoso, L. F. & Paula, F. J. A. De. The Multiple Effects of Thyroid Disorders on Bone and Mineral Metabolism. 58, (2014).
64. Feigerlova, E., Klein, M., Angelousi, A., Groza, L. & Leheup, B. Thyroid Disorders and Bone Mineral Homeostasis. (2012).
65. Medical Imaging in Clinical Trials: Medical Imaging Modalities. London: Miller, C, Krasnow, J, Schwartz, L., 2014. 978-1-84882-709-7.

66. Practice Parameter for the Performance of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA). 1076, 1–14 (2014).
67. Bonnick, S. Bone Densitometry in Clinical Practice: Application and Interpretation. third Edition, 2010. 978-1-60327-498-2.
68. Stone, M. et al. Bone Changes in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa. J. Adolesc. Heal. 39, 835–841 (2006).
69. National Osteoporosis Society. A Practical Guide to Bone Densitometry in Children. (2004).
70. Golden, N. H. & Abrams, S. A. Optimizing Bone Health in Children and Adolescents. Pediatrics 134, e1229–e1243 (2014).
71. Gordon, C. M. et al. Dual Energy X-ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents : The 2007 ISCD Pediatric Official Positions. 11, (2008).
72. Bachrach, L. K. & Sills, I. N. Clinical Report - Bone Densitometry in Children and Adolescents. 127, (2011).
73. Yager, J. et al. Practice Guideline For The Treatment of Patients With Eating Disorders Third Edition. Am. Psychiatr. Assoc. (2010).
74. Mirza, F. & Canalis, E. Secondary Osteoporosis: Pathophysiology and Management. 131–151 (2015).
75. Eating Disorders in Adolescents: Position Paper of the Society For Adolescent Medicine. J. Adolesc. Heal. 496–503 (2003).
76. Quételet, A. Antropométrie ou Mesure des Différentes Facultés de L’Homme. (1870).
77. World Health Organization. Child Growth Standards: WHO Anthro (version 3.2.2, January 2011) and Macros. (2011).

78. World Health Organization. Growth Reference 5-19 years: Weight-for-Age (5-10 years). (2007).
79. Zanchetta, J. R., Plotkin, H. & Filgueira, M. L. A. Bone Mass in Children : Normative Values for the 2-20- Year-Old Population. 6, (1995).
80. Finney, D. Statistics for Biologists. London: Chapman and Hall, 1980.
81. Nova, E., Varela, P., Casas, J. & Marcos, A. Evolution of Serum Biochemical Indicators in Anorexia Nervosa Patients : a 1-Year Follow-up Study. 23–30 (2008).
82. Copstead, L.-E. & Banasik, J. Pathophysiology. Fifth Edition, 2013. 978-1-4557-2650-9.
83. International Society for Clinical Densitometry. 2013 ISCD Combined Official Positions. (2013).
84. Radiology of Osteoporosis: Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. Second Revised Edition. Austria: Grampp, S, 2008. 978-3-540-25888-9.
85. Musculoskeletal Research and Basic Science. Turkey: Korkusuz, F., 2016. 978-3-319-20776-6.
86. Calcium and Bone Disorders in Children and Adolescents. Second Edition: Allgrove, J, Shaw, N., 2015. 978-3-318-05466-8.
87. Eriksen, S. A., Prietzel, H., Ibsen, J. R. & Lauritsen, M. B. Bone and Vitamin D Status in Patients with Anorexia Nervosa. 1–5 (2014).
88. Pediatric Neuroendocrinology. Cagliari: Loche, S, Cappa, M, Ghizzoni, L, Maghnie, M & Savage, M, 2010. 978-3-8055-9302-1.
89. Hochberg, M., Silman, A., Smolen, J., Weinblatt, M. & Weisman, M. Rheumatology. Sixth Edition, 2015. 978-0323091381.
90. Garg, M. & Kharb, S. Dual Energy X-Ray Absorptiometry: Pitfalls in Measurement and Interpretation of Bone Mineral Density. Indian J Endocrinol Metab 17, 203–210 (2013).



91. Brunader, R. & Shelton, D. Radiologic Bone Assessment in the Evaluation of Osteoporosis. *Am fam Physician* 65, 1357–1365 (2002).
92. Maghraoui, A. Interpreting a DXA Scan in Clinical Practice. (2012).
93. Essentials of Child and Adolescent Psychopathology. Second Edition. New Jersey: Wilmshurst, L., 2015. 978-1-118-84018-4.
94. Pritts, S. & Susman, J. Diagnosis of Eating Disorders in Primary Care. *Am. Fam. Physician* 67, (2003).
95. Usdan, L., Khaodhiar, L. & Apovian, C. The Endocrinopathies of Anorexia Nervosa. 14, 1055–1063 (2012).
96. Stone, M., Stone, M. & Sands, W. Principles and practice of resistance training, 2007. 978-0880117077.
97. Presannakumari, B. Postgraduate Gynecology. First Edition, 2011. 978-93-5025-082-2.
98. Cassell, D. & Gleaves, D. The Encyclopedia of Obesity and Eating Disorders. Third Edition, 2006. 0-8160-6197-1.
99. Pediatric Endocrinology: Growth, Adrenal, Sexual, Thyroid, Calcium, and Fluid Balance Disorders. Fifth Edition. New York: Lifshitz, F., 2007. 978-1-4200-4270-2.